



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM FARMÁCIA**

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE EFAVIRENZ
PARA O DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS
INCREMENTADORES DE DISSOLUÇÃO**

Cinira Fandaruff

**Florianópolis
2012**

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE EFAVIRENZ PARA O DESENVOLVIMENTO DE SISTEMAS INCREMENTADORES DE DISSOLUÇÃO

por

Cinira Fandaruff

Dissertação submetida ao Programa de
Pós-Graduação em Farmácia da
Universidade Federal de Santa Catarina
para a obtenção do Grau de Mestre em
Farmácia

Orientador: Prof. Dr. Marcos Antônio
Segatto Silva

Co-orientador: Prof. Dr. Helvécio
Vinícius Antunes Rocha

Florianópolis
2012

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelos caminhos, oportunidades, pela luz!

Ao Prof. Dr. Marcos pela oportunidade única. Obrigada pela orientação, compreensão, dedicação, apoio e amizade. Obrigada pela contribuição na minha formação profissional e pessoal!

Ao Prof. Dr. Helvécio por acreditar que mesmo distante eu seria capaz de realizar esse trabalho. Obrigada pela orientação, compreensão, dedicação, apoio e amizade. Obrigada pela contribuição na minha formação profissional e pessoal!

Aos meus pais, João e Rita, pelo amor, carinho, incentivo, compreensão e apoio dedicados à minha formação sempre. O aconchego do abraço deles é o melhor lugar do mundo no qual eu já pude estar! Ao irmão que tanto amo, Sidnei, à Juliana, e à pequena Laura que nos faz tão felizes!

Às Profas. Dras. Silvia L. Cuffini, Simone G. Cardoso e Hellen K. Stulzer pelo apoio na realização dos trabalhos, pelas conversas, pelos conselhos pedidos inúmeras vezes!

Aos amigos e colegas do laboratório, Andrea Costa Rica, Andrea Japa, Paola, Amarilis, Rafael, Camila, Mariana, Solomon, Adny, Carlos, Thalita, Bianca, Ana, Lari, Paulo, Andrea, Bruno, Manoela, Cassiana, Bárbara, Gabriela, Mônica, Silvinha, pelo convívio e amizade. Em especial aos amigos que contribuíram nas sugestões para a realização dos trabalhos.

Aos queridos amigos Luciana, Valdecir, Juliana Bonfim, Rosana, Rosilene, Kamille, Pedro, Ana, Primosa, Cristiane, Carlin, Meri, Rachel. Às funcionárias Solange, Claudinha e Sandra pela atenção e ao Bruno sempre disposto a ajudar.

Aos Laboratórios parceiros e seus pesquisadores e/ou colaboradores, ao Prof. Dr. Carlos Eduardo Maduro de Campos do Laboratório de Difração de Raios X de Pó, ao Laboratório Central de Microscopia Eletrônica da UFSC e sua equipe, ao Prof. Dr. Adailton J. Bortoluzzi do Laboratório de Química.

À Universidade Federal de Santa Catarina, PGFAR e professores, por tornarem possível a realização deste trabalho.

À Capes, pelo apoio financeiro com o fornecimento da bolsa de mestrado.

À FIOCRUZ/ Farmanguinhos pela parceria e por proporcionar conhecer a indústria e as adoráveis pessoas que lá encontrei. À UFRJ e às pessoas que me acolheram agradavelmente.

A todos que, mesmo não citados, participaram e colaboraram para a realização desse trabalho.

"O maior de todos os erros consiste em se equivocar com relação à verdadeira finalidade do Conhecimento, pois alguns são levados a ele apenas por uma curiosidade natural e por um temperamento sedento de saber; outros para entreter sua mente com a variedade e um certo prazer; outros para ostentação e para serem reconhecidos; outros ainda para competir e obter vitórias; muitos para conseguir lucros ou para ganhar a vida, e poucos apenas para se servir do dom divino da razão em benefício da humanidade."

Francis Bacon.

RESUMO

O efavirenz é um antirretroviral pertencente à classe dos inibidores de transcriptase reversa não-análogos de nucleosídeo, é indicado sempre em combinação com outros fármacos e utilizado no tratamento de primeira linha para adultos e crianças. A dose infantil é calculada pelo peso e a dose para adultos é de 600 mg uma vez ao dia. Dado a relevância do problema de solubilidade e biodisponibilidade para tão importante fármaco envolvido em uma questão de saúde pública mundial, o presente trabalho tem como objetivo realizar estudos de pré-formulação para o desenvolvimento de sistemas incrementadores de dissolução. A caracterização de duas matérias-primas (A e B) assegurou tratar-se sempre da mesma forma polimórfica, sendo a empregada pela indústria para formular, e os estudos de compatibilidade entre fármaco e excipientes indicaram ausência de incompatibilidade. Um método por cromatografia líquida de alta eficiência foi otimizado e validado para a quantificação do fármaco pela técnica de dissolução intrínseca. A aplicação do método permitiu identificar entre as matérias-primas a de maior taxa de dissolução, e diferenças significativas foram observadas na taxa de dissolução intrínseca para as matérias-primas previamente caracterizadas e que apresentaram a mesma estrutura cristalina. Os co-processados obtidos por *spray-drying* e liofilização após processamento em moinho coloidal e co-moagem com 0,2% de hidroxipropilmetilcelulose ou hidroxipropilcelulose e 0,2% de lauril sulfato de sódio apresentaram os melhores perfis de dissolução entre todas as formulações testadas. Quando da associação de lauril sulfato de sódio a qualquer dos dois polímeros derivados de celulose, observou-se entre 80 e 95% de dissolução do fármaco a partir de 5 minutos de análise. Portanto, resultados bastante superiores aos observados para os perfis de dissolução do efavirenz na ausência do surfactante ou de qualquer dos polímeros derivados de celulose foram obtidos. O incremento de dissolução foi alcançado e as perspectivas são de redução de dose e da incidência de reações adversas.

Palavras-chave: efavirenz; incompatibilidade; taxa de dissolução intrínseca; incremento de dissolução; biodisponibilidade; co-processados.

ABSTRACT

PHYSICAL AND CHEMICAL CHARACTERIZATION OF EFAVIRENZ FOR THE DEVELOPMENT OF SYSTEMS TO INCREMENT DISSOLUTION

Efavirenz is an antiretroviral which belongs to non-nucleoside reverse transcriptase inhibitor class. It is always indicated in combination with other drugs and used in first-line therapy in adults and children. For children the dosage is calculated according to the weight, and for adults 600 mg is used once a day. Due to the relevance of the problem about solubility and bioavailability of this important drug which is engaged in a public health issue worldwide, the present research aims to perform preformulation studies for the development of systems to increment dissolution. The characterization of different raw materials (A and B) guaranteed to always work with the same polymorphic form, used by the industry to formulate drugs and the compatibility studies between drug and excipients demonstrated no incompatibility. The method by high performance liquid chromatography was optimized and validated to quantify efavirenz by intrinsic dissolution rate technique. The application of this method allowed to identify between the raw materials, the one with the highest rate of dissolution, and significant differences were observed in the intrinsic dissolution rate for active pharmaceutical ingredients previously characterized and which showed the same crystalline structure. The products obtained by spray and freeze drying, after the processing in colloid mill and cogrinding with 0.2% of hydroxypropyl methylcellulose or hydroxypropylcellulose and 0.2% sodium lauryl sulfate showed the best dissolution profile between all the formulations tested. When the association between sodium lauryl sulfate and any of two polymers derived from cellulose was done, it was possible to notice 80 to 95% of dissolution drug after a 5-minute analysis. Thus, better results were obtained in comparison to the dissolution profiles of efavirenz without surfactant or any of polymers derived from cellulose. The improvement of the dissolution was achieved and the perspectives are dose reduction and the reduction of adverse reactions.

Keywords: efavirenz; incompatibility; intrinsic dissolution rate; improvement of dissolution; bioavailability; co-processed.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

Figura 1: Ciclo de replicação do HIV e local de ação dos medicamentos antirretrovirais	35
Figura 2: Estrutura química do efavirenz	39
Figura 3: Fotografia de um Moinho Coloidal.....	43
Figura 4: Esquema de um estator-rotor de Moinho Coloidal.....	44
Figura 5: Fotografia de um Spray Dryer	45
Figura 6: Fotografia de um Liofilizador	46

Capítulo 2

Figura 1: DSC and TG/DTG curves of EFV obtained in nitrogen atmosphere of 50 ml/min at heating rate of 10 K/min	55
Figura 2: DSC curve of EFV obtained at heating rate of 2 K/min under nitrogen atmosphere with flow rate of 50 ml/min	56
Figura 3: α -T curve for the decomposition of EFV at different heating rate	57
Figura 4: TG curves of EFV obtained at different heating rates under dynamic nitrogen atmosphere	58
Figura 5: Isothermal TG curves of EFV obtained between at 463, 453, 443, 433 and 423K under nitrogen atmosphere with flow rate of 50 ml/min	59
Figura 6: Plot $\ln 1/t$ versus the reciprocal of temperature $1/T$ from the data obtained in isothermal TG curves	60

Capítulo 3

Figura 1: SEM of EFV	73
Figura 2: Comparison between X-ray diffraction patterns of raw material (A) and calculated structure (B)	74
Figura 3: DSC curves of EFV, excipients, and EFV-excipient physical mixtures: (1:1 w/w): (A) EFV; (B) EFV: microcrystalline cellulose; (C) EFV: croscarmellose sodium; (D) EFV: magnesium stearate; (E) EFV: hydroxypropylcellulose; (F) EFV: spray dried lactose; (G) EFV: sodium lauryl sulfate. The excipients are represented by gray lines above each physical mixture	75
Figura 4: Infrared spectroscopy (FT-IR) of EFV (A), EFV: microcrystalline cellulose (B), EFV: croscarmellose sodium (C), EFV: magnesium stearate (D), EFV: hydroxypropylcellulose (E), EFV: spray dried lactose (F) and EFV: sodium lauryl sulfate (G).....	76

Figura 5: Comparison between X-ray diffraction patterns of raw material (A), excipients (gray color) and binary mixture (dark lines). EFV: microcrystalline cellulose (B), EFV: croscarmellose sodium (C), EFV: magnesium stearate (D), EFV: hydroxypropylcellulose (E), EFV: spray dried lactose (F) and EFV: sodium lauryl sulfate (G)	77
Figura 6: Comparison between Raman spectra of raw material (A), excipients (gray color) and binary mixture (dark lines). EFV: microcrystalline cellulose (B), EFV: croscarmellose sodium (C), EFV: magnesium stearate (D), EFV: hydroxypropylcellulose (E), EFV: spray dried lactose (F) and EFV: sodium lauryl sulfate (G)	78

Capítulo 4

Figura 1: A) Different SLS concentration. B) Behavior of different APIs in SLS 0.25 %. C) Behavior of different APIs in SLS 0.50 %	94
Figura 2: Chromatograms obtained in experimental conditions: (A) SLS 0.25 %, (B) standard solution in mobile phase and (C) standard solution in SLS 0.25 %	97

Capítulo 5

Figura 1: Comparison between DSC/TG of raw materials A and B	112
Figure 2: Comparison between DSC of raw materials, before (A and B) and after compressed disks (A1 and B1)	112
Figure 3: Particle size distribution for EFV raw materials (A and B) ..	113
Figure 4: SEM of two raw materials (A and B)	114
Figure 5: Comparison between X-ray diffraction patterns of two raw materials (A and B)	115
Figure 6: Comparison between X-ray diffraction patterns of two raw materials before (A and B) and after (A1 and B1) powder dissolution of raw materials	116
Figure 7: Comparison between Raman spectra of two raw materials (A and B)	117
Figure 8: Intrinsic Dissolution profiles of the EFV raw materials (A and B)	118

LISTA DE TABELAS

Capítulo 2

Tabela 1: Activation energies for the 10 to 85% conversions for the EFV obtained by the Ozawa-Flynn-Wall method	57
---	----

Capítulo 4

Tabela 1: Intermediate Precision (inter-day precision) and Repeatability (intra-day)	98
Tabela 2: Recovery results in the accuracy evaluation.....	99
Tabela 3: Stability results of the method.....	99
Tabela 4: Results of robustness evaluation.....	100

LISTA DE QUADROS

Capítulo 1

Quadro 1: Resumo das classes de medicamentos antirretrovirais.....	35
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS

AIDS - *Acquired Immune Deficiency Syndrome*
ANOVA – Análise de Variância
ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária
API – *Active Pharmaceutical Ingredient*
BCS – *Biopharmaceutics Classification System* (Sistema de Classificação Biofarmacêutica)
CLAE – Cromatografia Líquida de Alta Eficiência
CV% – Coeficiente de Variação Percentual
DIDR – *Disk Intrinsic Dissolution Rate* (Taxa de Dissolução Intrínseca em Disco)
DSC – *Differential Scanning Calorimetry* (Calorimetria Exploratória Diferencial)
DTA – *Differential Thermal Analysis* (Análise Térmica Diferencial)
DTG – *Derivative Thermogravimetry* (Termogravimetria Derivada)
FDA – *Food and Drugs Administration*
FIOCRUZ – Fundação Oswaldo Cruz
FT-IR – *Fourier Transform Infrared Spectroscopy* (Espectroscopia com Transformada de Fourier)
g/mol – Gramas por mol
HAART – *Highly Active Anti-Retroviral Therapy* (Terapia Antirretroviral Altamente Ativa)
HIV – Vírus da Imunodeficiência Humana
HIV-1 – Vírus da Imunodeficiência Humana Tipo 1
HIV-2 – Vírus da Imunodeficiência Humana Tipo 2
HPC – Hidroxipropilcelulose
HPLC – *High Performance Liquid Chromatography*
HPMC – Hidroxipropilmetilcelulose
ICH – *International Conference on Harmonization of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use*
IDR – *Intrinsic Dissolution Rate* (Taxa de Dissolução Intrínseca)
IFA – Insumo Farmacêutico Ativo
IV – Infravermelho
LAFEPE – Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco
LOD – *Limit of Detection* (Limite de Detecção)
LOQ – *Limit of Quantification* (Limite de Quantificação)
LSS – Lauril Sulfato de Sódio
MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura
ml – Mililitro
MSD – Merck Sharp & Dohme

nm – Nanômetro

NNRTIs – Inibidores de Transcriptase Reversa não-Análogo de Nucleosídeo

NRTIs – Inibidores de Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeo

PIs – Inibidores de Protease

RE – Resolução Específica

rpm – Rotações por minuto

RS – *Raman Spectroscopy*

RSD – *Relative Standard Deviation*

SEM – *Scanning Electron Microscopy*

SIDA – Síndrome da Imunodeficiência Adquirida

SLS – *Sodium Lauril Sulfate*

TG – Termogravimetria

UNAIDS – Programa Conjunto das Nações Unidas

USP – *United States Pharmacopeia*

UV-VIS – Ultravioleta Visível

XRPD – *X-ray powder diffraction* (Difração de raios-X de pó)

µg – Micrograma

µl – Microlitro

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	23
OBJETIVOS	27
OBJETIVO GERAL	27
OBJETIVOS ESPECÍFICOS	27
 CAPÍTULO 1: Revisão Bibliográfica	 29
1.1. HIV/AIDS	31
1.2. Situação da AIDS em Santa Catarina, no Brasil e no mundo	31
1.3. Curso Clínico da Doença	33
1.4. Tratamento	35
1.5. Características Farmacêuticas	38
1.6. Fármacos Pobremente Solúveis	40
1.7. Propriedades do Estado Sólido.....	41
1.8. Micronização.....	43
1.9. <i>Spray-drying</i> e Liofilização.....	44
 CAPÍTULO 2	
Artigo 1 - Caracterização de matéria-prima de efavirenz e estudos de cinética térmica.....	47
Artigo submetido – International Journal of Thermal Science.....	47
ACTIVATION ENERGY VALUES OBTAINED BY ISOTHERMAL AND NON-ISOTHERMAL CONDITIONS AND COMPARED WITH AN ISOCONVERSIONAL METHOD FOR EFAVIRENZ.....	51
 CAPÍTULO 3	
Artigo 2 - Caracterização e estudos de compatibilidade fármaco/excipiente.....	65
Artigo submetido – Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.....	65
RAW MATERIAL CHARACTERIZATION AND COMPATIBILITY STUDIES BETWEEN EFAVIRENZ AND PHARMACEUTICAL EXCIPIENTS USED IN SOLID DOSAGE FORMS.....	69
 CAPÍTULO 4	
Artigo 3 – Desenvolvimento de método de Dissolução Intrínseca para discriminar diferentes matérias-primas de Efavirenz.....	85
Artigo submetido – Química Nova.	85

INTRINSIC DISSOLUTION RATE METHOD FOR QUALITY CONTROL OF RAW MATERIAL EFAVIRENZ	89
---	----

CAPÍTULO 5

Artigo 4 – Aplicação de técnicas térmicas e espectroscópicas e investigação da taxa de Dissolução Intrínseca para seleção da matéria-prima de efavirenz em estudos de pré-formulação.....	103
---	-----

Artigo submetido – Drug Development and Industrial Pharmacy.....	103
--	-----

THERMAL AND SPECTROSCOPICAL THECNQUES AND INVESTIGATION OF INTRINSIC DISSOLUTION RATE FOR SELECTION OF EFAVIRENZ RAW MATERIALS IN THE PREFORMULATION STUDIES.....	107
---	-----

DISCUSSÃO GERAL.....	123
----------------------	-----

CONCLUSÕES	131
------------------	-----

PERSPECTIVAS.....	135
-------------------	-----

REFERÊNCIAS.....	139
------------------	-----

APÊNDICE.....	155
---------------	-----

Artigo 1: Utilização do moinho coloidal para a obtenção de uma suspensão de baixo custo para melhoria da solubilidade e dissolução de efavirenz.	157
---	-----

Manuscrito em preparação.	157
--------------------------------	-----

A SIMPLE AND EFFICIENT METHOD FOR DISSOLUTION IMPROVEMENT OF EFAVIRENZ	161
--	-----

INTRODUÇÃO

O antirretroviral efavirenz pertence à classe dos inibidores de transcriptase reversa não-análogos de nucleosídeo (NNRTI) e compõe a terapia antirretroviral altamente ativa (HAART) no tratamento do vírus tipo 1 da imunodeficiência humana (ESTÉ; CIHLAR, 2010; PERONI et al., 2011). Comercializado sob os nomes de Sustiva[®] (FDA, 2010) e Stocrin[®] (BRASIL, 2001) pelos laboratórios Bristol-Myers Squibb e Merck Sharp & Dohme (MSD), respectivamente, foi aprovado pelo FDA em setembro de 1998 e indicado sempre em combinação com outros fármacos no tratamento de primeira linha em adultos e crianças (CHIAPPETTA et al., 2010).

Desenvolvido desde 1996, o programa brasileiro de atendimento a pacientes com AIDS (Acquired Immune Deficiency Syndrome) gastava em 2005 aproximadamente 800 milhões de Reais na importação de antirretrovirais protegidos por patentes. Em maio de 2007 o presidente Luiz Inácio Lula da Silva declarou de utilidade pública o medicamento antirretroviral efavirenz, protegido por patente até 2012, até então produzido pela MSD. A partir de então o laboratório nacional Farmanguinhos e o Laboratório do Estado de Pernambuco (LAFEPE) passaram a fabricar o medicamento, distribuindo-o, entretanto, apenas na rede pública de saúde (ELIAS, 2009).

Com os objetivos da HAART de suprimir a carga viral abaixo dos limites de detecção e restabelecer a função imune através do aumento no número de células T CD4+ (CHEN; HOY; LEWIN, 2007) é notável a necessidade de melhorar propriedades como biodisponibilidade, citotoxicidade e intervalo de dose dos medicamentos utilizados na terapia (NOWACEK et al., 2010). Melhorar a solubilidade e, portanto, incrementar as propriedades de dissolução do efavirenz é questão essencial para que sua biodisponibilidade seja adequada (SATHIGARI et al., 2009).

A melhoria de propriedades críticas como as citadas anteriormente, exige o conhecimento aprofundado do insumo farmacêutico ativo (IFA) e seu controle rigoroso desde a seleção da matéria-prima mais apropriada e dos excipientes para formular até a garantia de estabilidade durante o prazo de validade do produto final (CUFFINI; PITALUGA; TOMBARI, 2009). O conhecimento das propriedades do estado sólido é condição essencial para o cumprimento dos regulamentos de produção de novos medicamentos (ICH Q6A, 1999), uma vez que diferentes formas cristalinas, além de outros

inúmeros parâmetros do estado sólido, podem influenciar processos e produtos e alterar a biodisponibilidade e a terapêutica (AALTONEN et al., 2009; CUFFINI; PITALUGA; TOMBARI, 2009).

A dissolução intrínseca, ferramenta capaz de avaliar a influência de algumas propriedades do estado sólido (CUFFINI; PITALUGA; TOMBARI, 2009; ŠEHIĆ et al., 2010), foi aplicada após otimização e validação de método empregado para quantificar efavirenz, seguindo-se as especificações exigidas (USP 2007; ICH Q2 (R1) 2005; BRASIL, 2003), e posteriormente foi utilizada para avaliação das propriedades do estado sólido para duas diferentes matérias-primas de efavirenz.

A tecnologia farmacêutica fornece hoje inúmeras estratégias para aumentar a taxa de dissolução e alcançar uma adequada biodisponibilidade, em especial para os fármacos pertencentes às classes II e IV do Sistema de Classificação Biofarmacêutica (BCS). A micronização implica em modificação física como forma de promover redução do tamanho das partículas e aumento da área superficial, sendo considerada uma estratégia bastante promissora (VOGT; KUNATH; DRESSMAN, 2008; FERRAZ, 2009; PANKAJ et al., 2011; BRANHAM; MOYO; GOVENDER, 2011).

A utilização do surfactante aniônico lauril sulfato de sódio (LSS) tem por objetivo estabilizar suspensões. As partículas precisam ser impedidas de se aglomerarem e o LSS cria uma barreira energética de alta energia responsável por gerar repulsão e impedir que as partículas se juntem (RABINOW, 2004). Na presença do surfactante a molhabilidade das pequenas partículas lipofílicas do fármaco é facilitada e isso também contribui para o aumento da taxa de dissolução (VOGT; KUNATH; DRESSMAN, 2008).

Como o grande foco do mercado farmacêutico são as formulações sólidas orais, estes sistemas (micronizados) devem ser processados para a obtenção de uma forma farmacêutica sólida. Isso pode ser realizado a partir de técnicas clássicas de granulação ou por técnicas de *spray-drying* e liofilização (ABDELWAHED; DEGOBERT; FESSI, 2006(a); VOGT; KUNATH; DRESSMAN, 2008; SOLLOHUB; CAL, 2009). A liofilização consiste no mais utilizado processo para a remoção de água e melhoria da estabilidade física e química de diversos processados farmacêuticos (FRANKS, 1998; ABDELWAHED; DEGOBERT; FESSI, 2006 a). A técnica de *spray-drying* é amplamente utilizada no preparo de pós com características específicas como tamanho e morfologia de partícula (LEE, 2003; TEWA-TAGNE; BRIANÇON; FESSI, 2007).

Para o efavirenz, importante fármaco envolvido em uma questão de saúde pública mundial, e pertencente à Classe II do BCS, o desenvolvimento de sistemas incrementadores de dissolução é extremamente atraente em termos tecnológicos. A melhoria da dissolução pode resultar em aumento da biodisponibilidade com diminuição da dosagem e da ocorrência de reações adversas. Além disso, formulações à base de efavirenz com as características anteriormente citadas, e que sejam de fácil escalonamento industrial, podem ser de grande interesse para a indústria farmacêutica brasileira devido à publicação do licenciamento compulsório do medicamento em 2007.

No presente trabalho técnicas de micronização, co-moagem com LSS e polímeros derivados de celulose, além de secagem por *spray-drying* e liofilização, são propostas para o desenvolvimento de co-processados. Todos são processos já aplicados em escala industrial e intensamente relatados pela literatura (OTSUKA; OFUSA; MATSUDA, 1998; VOGT; KUNATH; DRESSMAN, 2008; da COSTA, 2011) para outros fármacos. Um exemplo é a micronização, utilizada pelas farmoquímicas brasileiras para o fornecimento de efavirenz aos laboratórios produtores do medicamento.

O conhecimento das propriedades farmacêuticas, biofarmacêuticas, químicas e físicas é fundamental para a escolha da matéria-prima mais apropriada a ser utilizada no desenvolvimento dos sistemas propostos, por isso a importância em caracterizar física e quimicamente o insumo ativo e verificar a existência ou não de incompatibilidade com os excipientes. As análises espectroscópicas, de difração de raios X, análise térmica e taxa de dissolução intrínseca, são técnicas aplicadas no presente trabalho e que associadas vem sendo utilizadas pelas indústrias farmacêuticas para a caracterização e o controle das propriedades físico-químicas dos seus insumos (GIRON, 2002; CUFFINI; PITALUGA; TOMBARI, 2009). A técnica de dissolução intrínseca correlacionada com a dinâmica de dissolução in vivo, tem sido empregada para a caracterização de fármacos (YU et al., 2004) e teve seu emprego neste trabalho para a seleção da matéria-prima mais apropriada para formular.

A associação das inúmeras técnicas mencionadas permite caracterizar as matérias-primas e selecioná-las de acordo com as melhores características desejadas, controlar suas propriedades físico-químicas durante as etapas de desenvolvimento dos sistemas incrementadores de dissolução e caracterizar os co-processados obtidos.

Neste contexto o presente estudo está apresentado na forma de capítulos, sendo:

Capítulo 1 – Revisão Bibliográfica.

Capítulo 2 – Artigo Científico: Activation Energy Values obtained by Isothermal and Non-Isothermal Conditions and Compared with an Isoconversional Method for Efavirenz.

Capítulo 3 – Artigo Científico: Raw Material Characterization and Compatibility Studies Between Efavirenz and Pharmaceutical Excipients Used in Solid Dosagem Forms.

Capítulo 4 – Artigo Científico: Intrinsic Dissolution Rate Method For Quality Control of Raw Material Efavirenz.

Capítulo 5 – Artigo Científico: Thermal and Spectroscopical Techniques and Investigation of Intrinsic Dissolution Rate for Selection of Efavirenz Raw Materials in the Preformulation Studies.

Apêndice: Artigo Científico: A Simple and Efficient Method for Dissolution Improvement of Efavirenz.

Discussão Geral, Perspectivas e Conclusão.

OBJETIVOS

OBJETIVO GERAL

Caracterizar físico-quimicamente o insumo ativo efavirenz incluindo a verificação de sua compatibilidade com excipientes, para o desenvolvimento de sistemas incrementadores de dissolução.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Avaliar o comportamento termoanalítico do efavirenz e realizar estudos de cinética de decomposição.
- ✓ Avaliar a compatibilidade entre efavirenz e diversos excipientes farmacêuticos.
- ✓ Otimizar e validar um método para quantificar efavirenz no teste de dissolução intrínseca.
- ✓ Caracterizar as propriedades físico-químicas e avaliar a dissolução intrínseca de três matérias-primas de efavirenz.
- ✓ Incrementar as propriedades de dissolução do efavirenz por meio de técnicas de co-processamento.

CAPÍTULO 1: Revisão Bibliográfica

1.1. HIV/AIDS

A AIDS, síndrome da imunodeficiência humana foi descrita pela primeira vez nos Estados Unidos em 1981(ANDERSON; KAKUDA; FLETCHER, 2008). A infecção pelo vírus HIV e a síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA/ AIDS), referida como HIV/AIDS, constituem uma doença infecciosa de grande desafio para a saúde pública mundial (OJEWOLE et al., 2008).

O HIV-1 é o agente etiológico das infecções em todo o mundo, enquanto o HIV-2 é mais prevalente no oeste da África (OJEWOLE et al., 2008; WIGG, 2008). O retrovírus HIV-2 também causa a doença, mas apresenta-se menos virulento, transmissível e prevalente que o HIV-1 (ANDERSON; KAKUDA; FLETCHER, 2008; WIGG, 2008; OJEWOLE et al., 2008).

Na infecção o sistema imunológico é superativado na tentativa de eliminar as novas partículas virais produzidas, mas os vírus conseguem destruir as células que normalmente seriam capazes de eliminá-los; isso leva à liberação de ocitocinas e à expressão de co-receptores para o HIV na superfície de linfócitos com aumento da população viral até que o sistema imunológico do indivíduo comece a apresentar manifestações de imunodeficiência (WIGG, 2008).

Quando isso acontece infecções oportunistas por *Pneumocystis carinii* e *Mycobacterium tuberculosis*, cânceres (STODDART; REYES, 2006; ANDERSON; KAKUDA; FLETCHER, 2008) e demência (STODDART; REYES, 2006) podem ocorrer, e, sem tratamento, a infecção pelo HIV-1 é fatal no período entre 5 a 10 anos (STODDART; REYES, 2006).

1.2. Situação da AIDS em Santa Catarina, no Brasil e no mundo

De acordo com dados do GLOBAL HIV/AIDS RESPONSE de 2011 e da UNAIDS (Programa Conjunto das Nações Unidas) de 2011 sobre HIV/AIDS, até 2010 existiam no mundo 34 milhões de pessoas portadoras de HIV e deste total 3,4 milhões eram crianças com idade inferior a 15 anos. Neste mesmo ano, aproximadamente 6,6 milhões de pessoas portadoras do vírus estavam recebendo terapia antirretroviral, o que fez com que o número de óbitos por doenças relacionadas à AIDS apresentasse redução de 2,2 milhões em 2005 para 1,8 milhões em 2010.

Segundo a UNAIDS, um total de 2,5 milhões de óbitos tem sido evitado em países de baixa e média renda desde 1995 devido à introdução de terapia antirretroviral e devido ao progresso no acesso ao

tratamento. Somente em 2010, 700.000 óbitos relacionados à AIDS foram evitados e, de acordo com o último Boletim Epidemiológico (28/11/2011) divulgado pelo Ministério da Saúde, esse avanço é ainda mais significativo nos casos relacionados à transmissão entre mãe e bebê, o que pode ocorrer durante a gravidez, parto ou amamentação. Para estes casos, os números mostram diminuição expressiva de 41 % no período de 1998 a 2010 (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2011).

No Brasil, 608.230 casos foram notificados até junho de 2011. A taxa de incidência apresentou queda de 18.8/ 100 mil habitantes em 2009 para 17.9/ 100 mil habitantes em 2010 (BOLETIM AIDS, 2011). Embora estabilizada, a epidemia no país ainda apresenta desafios. Em 2000 foram notificados 31 mil casos; em 2009, 38 mil. De acordo com o Ministério da Saúde esse aumento é devido à busca pelo diagnóstico e, portanto, mais efetivo tratamento (MS/SVS/2010).

Conforme relatado pela UNAIDS, o Boletim Epidemiológico de 2007 trouxe, pela primeira vez, dados sobre a proporção de pessoas que continuaram vivendo com AIDS em até cinco anos após o diagnóstico. O estudo foi feito com base no número de pessoas identificadas com a doença em 2000. Cinco anos depois de diagnosticadas 90 % das pessoas com AIDS estavam vivas no Sudeste. Nas demais regiões, os percentuais foram de 78 % no Norte, 80 % no Centro Oeste, 81 % no Nordeste e 82 % no Sul (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2007).

Em Santa Catarina, segundo dados da Vigilância Epidemiológica, de 1984 a julho de 2011 foram notificados 31.635 casos de AIDS. Seguindo as estatísticas mundiais, também no Estado observa-se redução do número de crianças infectadas menores de 13 anos de idade. Oitenta e três casos foram notificados no ano de 1998 contra 3 casos em 2011 (até julho). A melhor assistência ao pré-natal, parto e puerpério poderão contribuir de forma ainda mais efetiva para a eliminação dos casos evitáveis de transmissão vertical do vírus no Estado. Porém, taxas de mortalidade superiores às do Brasil são observadas em Santa Catarina. O número de óbitos vem aumentando a cada ano e 39 % dos óbitos ocorre no grupo etário de 30 a 39 anos (DIVE, 2011).

O relatório divulgado em novembro de 2011 pelo Programa Conjunto das Nações Unidas sobre HIV/ AIDS (UNAIDS) apontou o modelo brasileiro de prevenção do HIV e assistência como sendo um dos melhores do mundo. Hoje o SUS oferece tratamento antirretroviral a 97 % dos brasileiros diagnosticados com AIDS.

Desenvolvido desde 1996, o programa brasileiro de atendimento a pacientes com AIDS gastou em 2005 quase um bilhão de

Reais, sendo 80 % na importação de medicamentos protegidos por patentes. Dos 19 medicamentos utilizados no “coquetel” contra a AIDS, 9 já eram produzidos por laboratórios nacionais, no entanto, a importação dos 10 restantes representava 72 % dos gastos do programa. Portanto, o alto custo dos antirretrovirais patenteados era uma ameaça à viabilidade do programa brasileiro. Assim, em maio de 2007 o presidente Luiz Inácio Lula da Silva declarou de utilidade pública um medicamento protegido por patente até 2012, o antirretroviral efavirenz, até então produzido pela multinacional MSD. A partir de então o laboratório nacional Farmanguinhos (FIOCRUZ) passou a fabricar o medicamento, distribuindo-o, entretanto, apenas na rede pública de saúde (ELIAS, 2009). O Laboratório Farmacêutico do Estado de Pernambuco (LAFEPE) também produz o medicamento. Ambos os laboratórios obtêm o fármaco das empresas Nortec Química, Cristália Produtos Químicos Farmacêuticos LTDA e Globe Química (da COSTA, 2011).

1.3. Curso Clínico da Doença

A compreensão do ciclo de vida do HIV é necessária porque as estratégias utilizadas para o tratamento têm como alvo várias etapas do ciclo (Figura 1). Uma glicoproteína externa presente na superfície do vírus – a gp 160 – liga-se a proteínas receptoras CD4 presentes na superfície de linfócitos T, monócitos, macrófagos, células dendríticas e micróglia do cérebro assim que o HIV entra no corpo humano. A gp 160 é composta de duas subunidades – gp 120 e gp 41. A ligação do vírus ao CD4 ocorre devido à subunidade gp 120 (ANDERSON; KAKUDA; FLETCHER, 2008). Além de ser um passo fundamental para a entrada do vírus nas células, a ligação da glicoproteína gp 120 ao receptor CD4 também interfere com as vias intracelulares de transdução de sinal e promove a apoptose das células TCD4+ (WIGG, 2008). O receptor CD4 sofre uma alteração conformacional e a glicoproteína gp 120 liga-se também a um segundo receptor ou co-receptor que é representado por algumas moléculas receptoras para quimiocinas (em especial CCR5 e CXCR4) (ANDERSON; KAKUDA; FLETCHER, 2008; WIGG, 2008). O co-receptor CCR5 presente na superfície das células promove a ligação de vírus que apresentam tropismo para macrófagos, monócitos e células dendríticas. Esses vírus são transmitidos preferencialmente por mucosas e via endovenosa. CXCR4 é co-receptor para vírus que apresentam tropismo por células T, os quais são detectados em estágios

tardios da doença, normalmente (ANDERSON; KAKUDA; FLETCHER, 2008; WIGG, 2008; KINDT; GOLDSBY; OSBORNE, 2008). O domínio fusogênico da gp 41 e do co-receptor CXCR4 promove a fusão com a internalização do material genético viral e das enzimas necessárias à replicação (KINDT; GOLDSBY; OSBORNE, 2008). Após internalização, a proteína viral que reveste o ácido nucleico (capsídeo) é perdida e o processo de replicação tem início (ANDERSON; KAKUDA; FLETCHER, 2008; KINDT; GOLDSBY; OSBORNE, 2008). A fita simples de RNA precisa ser transcrita a DNA. A transcriptase reversa é responsável por essa tarefa (ANDERSON; KAKUDA; FLETCHER, 2008; WIGG, 2008). É relatado pela literatura que muitos erros ocorrem durante o processo de transcrição, gerando defeitos no DNA, fato que contribui para a manutenção do vírus, permitindo que “engane” o sistema imunológico, dificultando o desenvolvimento de uma vacina e promovendo resistência aos antirretrovirais disponíveis (ANDERSON; KAKUDA; FLETCHER, 2008). Após a transcrição, a dupla fita de DNA migra para o núcleo e é integrada ao cromossoma da célula do hospedeiro pela integrase (ANDERSON; KAKUDA; FLETCHER, 2008; WIGG, 2008; KINDT; GOLDSBY; OSBORNE, 2008). A integrase incorpora o DNA do vírus ao material genético do hospedeiro. A expressão dos genes virais resulta na transcrição do RNA a partir do DNA do vírus e na tradução das proteínas virais, Tat, Nef, Ver, Vpu, Vif e Vpr, responsáveis por aumentar a replicação e inibir a imunidade inata (SOUZA; ALMEIDA, 2003; KINDT; GOLDSBY; OSBORNE, 2008; WIGG, 2008; ANDERSON; KAKUDA; FLETCHER, 2008). Estas proteínas são produzidas como precursoras de poliproteínas; com o RNA viral permanecem na superfície celular e são incorporadas às partículas virais que “brotam” na membrana celular. As poliproteínas são processadas a proteínas e enzimas estruturais funcionais e então as partículas virais estão na forma ativa, prontas para infectar novas células (SOUZA; ALMEIDA, 2003; KINDT; GOLDSBY; OSBORNE, 2008; WIGG, 2008).

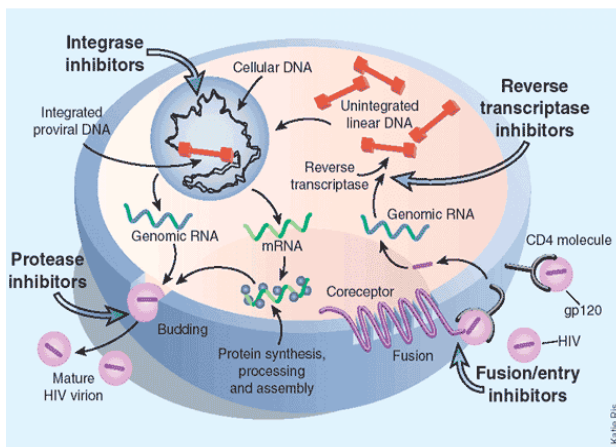


Figura 1. Ciclo de replicação do HIV e local de ação dos antirretrovirais (Fonte: adaptação de www.biology.arizona.edu).

1.4. Tratamento

Os medicamentos antirretrovirais surgiram na década de 1980 e desde 1996 o Brasil distribui gratuitamente o “coquetel” antiAIDS (WIGG, 2008; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). O Ministério da Saúde divide em cinco classes os 19 antirretrovirais (Quadro 1) (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012) e de acordo com o GUIA para Uso de Antirretrovirais em Adultos e Crianças Infectados pelo HIV-1 de 2011, são mais de 20 os medicamentos classificados em seis grupos, os antagonistas de CCR5 não constam na classificação brasileira (NIH, 2011).

Quadro 1 – Resumo das classes de medicamentos antirretrovirais (adaptado de MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012).

MEDICAMENTOS ANTIRRETROVIRAIS	
Classe	Medicamentos
Inibidores de Transcriptase Reversa Análogos de Nucleosídeos (NRTI)	Abacavir, Didanosina, Estavudina, Lamivudina, Tenofovir, Zidovudina

Inibidores de Transcriptase Reversa Não-Análogos de Nucleosídeos (NNRTI)	Efavirenz, Etravirina, Nevirapina
Inibidores de Protease	Amprenavir, Atazanavir, Darunavir, Indanavir, Lopinavir, Nelfinavir, Ritonavir e Saquinavir
Inibidores de Fusão	Enfuvirtida
Inibidores de Integrase	Raltegravir

De acordo com o Protocolo de Assistência Farmacêutica de 2010, elaborado pelo Ministério da Saúde, após a introdução dos antirretrovirais, e entre os anos de 1995 e 2001, o número de óbitos diminuiu em aproximadamente 50 %, e ainda mais significativa foi a queda nas internações por tuberculose e pneumonia que atingiram 80 % de redução (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010).

Os Inibidores de Transcriptase Reversa não Análogos de Nucleosídeos (NNRTIs) atuam inibindo a Transcriptase Reversa, mas não requerem fosforilação intracelular (CHEN; HOY; LEWIN, 2007; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). Efavirenz, Nevirapina e Etravirina são os NNRTIs utilizados no Brasil, sendo este último, disponibilizado no final de 2010 para os casos de resistência (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010). No Brasil, o efavirenz é o medicamento de escolha em relação à nevirapina por apresentar elevada potência de supressão viral, eficácia a longo prazo e menor risco de efeitos adversos (WIGG, 2008). Um estudo de revisão dos NNRTIs dos últimos 20 anos classificou os NNRTIs como de Primeira Geração – Nevirapina, Efavirenz e Delavirdina e *Next generation* – Etravirina, Rilpivirina, Lersivirina, RDEA806, IDX899 e relatou ser a Etravirina o primeiro NNRTI a demonstrar eficácia terapêutica em pacientes resistentes aos demais NNRTIs (BÉTHUNE, 2010).

Os Inibidores de Transcriptase Reversa Análogos de ¹Nucleosídeos (NRTIs) são os antirretrovirais mais prescritos. Atuam inibindo a transcriptase reversa do HIV e evitam a formação do DNA viral (CHEN; HOY; LEWIN, 2007). Zidovudina, Lamivudina, Abacavir, Didanosina, Estavudina e o Tenofovir são os antirretrovirais pertencentes a esta classe no Brasil (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). Outros estudos citam como pertencentes a esta classe a zalcitabina (CIHLAR; RAY, 2010) e a emtricitabina (CHEN; HOY; LEWIN, 2007; CIHLAR; RAY, 2010).

Inibidores de Protease (PIs) impedem a ação da enzima protease e, conseqüentemente, a produção de novos vírus (CHEN et al., 2007). São pertencentes a esta classe: Saquinavir, Ritonavir, Indinavir, Nelfinavir, Fosamprenavir, Lopinavir, Atazanavir e Darunavir (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2012). Um estudo de revisão sobre os 15 anos dos inibidores de protease inclui nesta classe outro antirretroviral, o Tripanavir, e classifica os quatro primeiros fármacos citados anteriormente como pertencentes à primeira geração de inibidores de protease e os cinco últimos como pertencentes à segunda geração (WENSING; MAARSEVEEN; NIJHUIS, 2010).

Inibidores de Fusão são responsáveis por impedir a entrada do vírus na célula, os inibidores de fusão pertencem a um grupo de inibidores de entrada (TILTON; DOMS, 2010). Enfuvirtida é o antirretroviral representante desta classe, não apresenta biodisponibilidade oral e por isso é administrado por injeção subcutânea; não é licenciado para tratamento de pacientes *naive*¹ (CHEN; HOY; LEWIN, 2007).

Os inibidores da Integrase são uma nova classe de antirretrovirais, inibem irreversivelmente a integração do DNA do vírus ao genoma do hospedeiro, e, portanto, a replicação viral e a sua capacidade de infectar novas células (CHEN et al., 2007). O único representante é o Raltegravir (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2010; CHEN; HOY; LEWIN, 2007), já aprovado pela ANVISA para uso no Brasil, porém sem previsão de chegada ao Sistema Único de Saúde (SUS) (MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO, 2008).

O tratamento do HIV/AIDS teve início com a Zidovudina há 25 anos e evoluiu para a Terapia Antirretroviral Altamente Ativa (HAART) (ESTÉ; CIHLAR, 2010). Na HAART, pelo menos três antirretrovirais são utilizados, dois NRTI's e um NNRTI ou dois NRTI's e um PI mais Ritonavir (CHEN; HOY; LEWIN, 2007). Os benefícios sem

¹*naive*: pacientes que não receberam tratamento anteriormente.

precedentes resultantes da HAART têm sido descritos tanto em nível individual como epidemiológico, e modificado a história da doença, possibilitando aos pacientes infectados pelo HIV-1 viver mais e com melhor qualidade de vida. A HAART tem como objetivos suprimir a carga viral abaixo dos limites de detecção e restabelecer a função imune através do aumento no número de células T CD4+ (CHEN; HOY; LEWIN, 2007; MORENO et al., 2010; ESTÉ; CIHLAR, 2010).

Embora tantos benefícios tenham sido relatados, inúmeras questões ainda precisam ser melhoradas no intuito de garantir maior adesão do paciente à terapia, simplificação do tratamento, diminuição da resistência e dos efeitos adversos (AMIJI; VYAS; SHAH, 2006; ESTÉ; CIHLAR, 2010; MORENO et al., 2010). Com o aumento da expectativa de vida dos pacientes, os antirretrovirais passaram a ser utilizados por longos períodos, favorecendo o surgimento de resistência e potencial toxicidade (MORENO et al., 2010).

Em sua maioria, os antirretrovirais sofrem extenso metabolismo de primeira passagem e, portanto, baixa e variável biodisponibilidade. Para alguns destes medicamentos o tempo de meia-vida é curto, por isso a necessidade de administração frequente e maior chance de não adesão ao tratamento. Para outros antirretrovirais, a dificuldade em atingir concentrações adequadas no sítio de ação e/ou a pobre biodisponibilidade exigem doses extremamente altas, o que facilita a ocorrência de efeitos indesejáveis. Associado a estas características, vários dos agentes anti-HIV apresentam problemas físico-químicos, como baixa solubilidade aquosa, por isso a necessidade de estratégias que superem estas limitações (OJEWOLE et al., 2008; AMIJI; VYAS; SHAH, 2006).

1.5. Características Farmacêuticas

O efavirenz, comercializado sob os nomes de Sustiva® (FDA, 2010) ou Stocrin® (BRASIL, 2001), pelos laboratórios Bistol-Myers Squibb e Merck Sharp & Dohme, respectivamente, é um inibidor de transcriptase reversa não-análogo de nucleosídeo (NNRTI) usado como parte da HAART (CHIAPPETTA et al., 2010). Encontra-se na apresentação de cápsulas de 200 mg, comprimidos revestidos de 600 mg e solução oral de 30 mg/ml (MSD, 2010). Foi aprovado pelo FDA em setembro de 1998 (FDA, 2010), sendo indicado sempre em combinação com outros fármacos e usado no tratamento de primeira linha em adultos e crianças (CHIAPPETTA et al., 2010).

Apresenta biodisponibilidade oral entre 40 – 45 % e sua variabilidade intra e inter-individual é de 55 – 58 % e 19 – 24 %, respectivamente (CHIAPPETTA et al., 2011). Encontra-se altamente ligado às proteínas plasmáticas, predominantemente albumina. O metabolismo ocorre no fígado através do sistema Citocromo P450. O tempo de meia-vida é de aproximadamente 52 a 76 horas após a ingestão de única dose, possibilitando administração única diária. Aproximadamente 14 a 34 % da dose são eliminados na urina e entre 16 a 41 % são eliminados nas fezes (LACY et al., 2005).

Não deve ser utilizado como monoterapia e nem deve ser administrado a gestantes. A dose infantil é calculada pelo peso e a dose para adultos é de 600 mg uma vez ao dia. Pode ser administrado com ou sem alimentos e antes de dormir como medida preventiva dos efeitos adversos sobre o sistema nervoso central, como dificuldade de concentração, tontura e sonolência (MSD, 2010).

Como a maioria dos IFAs, o efavirenz apresenta polimorfismo e, de acordo com a patente da DuPont (WO 99/64405), cinco diferentes formas polimórficas foram confirmadas, sendo a Forma 1, relatada por Mahapatra e colaboradores, aquela comumente utilizada para formulação devido à maior estabilidade (MAHAPATRA et al., 2010). Outras duas formas polimórficas foram relatadas, por Cuffini e colaboradores (2009) e outras duas por Ravikumar e Sridhar (2009).

O efavirenz (figura 2) é um sólido cristalino lipofílico com massa molar de 315,68 g/mol e solubilidade em meio aquoso de 9,0 µg/ml. Pertence à Classe II do BCS, ou seja, é pouco hidrossolúvel e altamente permeável (AMIDON et al., 1995). A taxa de dissolução intrínseca é inferior a 0,1 mg/min/cm² e pode ser um fator limitante para a absorção oral do medicamento. Neste sentido, alternativas que aumentem a dissolução deste ativo são essenciais para uma biodisponibilidade adequada (SATHIGARI et al., 2009).

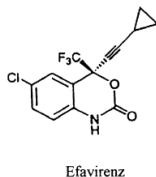


Figura 2. Estrutura química do efavirenz. (Fonte: adaptação de SATHIGARI et al., 2009).

1.6. Fármacos Pobrementemente Solúveis

A tendência na descoberta de novos fármacos tem sido a obtenção de compostos que exibem alta lipofilicidade e baixa solubilidade aquosa (VOGT; KUNATH; DRESSMAN, 2008). Embora a solubilidade dos fármacos seja fator essencial para a efetividade dos medicamentos a serem desenvolvidos, independentemente da via de administração (KOCBECK; BAUMGARTNER; KRISTL, 2006), a via oral continua sendo a mais popular e econômica (LIU; WANG; HU, 2009).

Fármacos de baixa solubilidade aquosa comumente apresentam baixa biodisponibilidade quando administrados por essa via porque a absorção é uma etapa limitante do processo (SUGIMOTO et al., 1998) e, para que possam ser adequadamente absorvidos, os fármacos precisam ser primeiramente dissolvidos no sítio de absorção (LIU; WANG; HU, 2009; ANSEL; POPOVICH; ALLEN, 2007).

Atualmente, a tecnologia farmacêutica fornece inúmeras estratégias para aumentar a taxa de dissolução e promover melhoria da biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis. Uma maior dissolução dos fármacos é obtida através do aumento da solubilidade de acordo com a equação de Noyes-Whitney:

$$\frac{dC}{dt} = kS (c_s - c_t),$$

(Fórmula 1)

onde dC/dt é a velocidade de dissolução, k é a constante de velocidade de dissolução, S , a área superficial do sólido, c_s , a solubilidade de saturação do composto no meio de dissolução, c_t a concentração do fármaco no meio (LEUNER; DRESSMAN, 2000, ANSEL; POPOVICH; ALLEN, 2007).

O aumento da área superficial pela redução do tamanho de partícula do sólido, a otimização das propriedades de molhagem da superfície do composto através da adição de baixas concentrações de surfactantes (LEUNER; DRESSMAN, 2000; JAEGERE et al., 2000), a diminuição da espessura da camada limitante (*boundary layer thickness*), a manutenção das condições *sink* para dissolução e a melhoria da solubilidade aparente do fármaco sob condições fisiológicas relevantes são algumas das principais possibilidades (LEUNER; DRESSMAN, 2000). Cita-se ainda a formação de dispersões ou

soluções sólidas, a formulação em óleos ou emulsões e a complexação com agentes solubilizantes como as ciclodextrinas (JAEGHERE et al., 2000). Também, a melhoria de dissolução para os fármacos pouco solúveis em água, através da co-moagem (*cogriding*) com surfactantes, foram relatadas já em 1998 por Otsuka, Ofusa e Matsuda, assim como da Costa (2011) para o próprio efavirenz. A literatura relata ainda a co-moagem com polímeros como HPMC e/ou HPC, os quais são solúveis nesse meio (SUGIMOTO et al, 1998; OTSUKA; OFUSA; MATSUDA, 1998; VOGT; KUNATH; DRESSMAN, 2008). A técnica de *spray-drying* é outro método de obtenção de partículas de tamanho reduzido, permite o controle de propriedades como tamanho e morfologia e resulta em aumento na solubilidade do fármaco quando do co-processamento deste com determinados excipientes e/ou surfactantes e secagem por esta técnica (SOLLOHUB; CAL, 2010). Um relato importante da aplicação dessa técnica (*co-spray drying*) para aumento da solubilidade aquosa e biodisponibilidade consiste no estudo realizado com o fármaco de baixa solubilidade aquosa, a griseofulvina (WONG; KELLAWAY; MURDAN, 2006), além de da Costa (2011) também com o efavirenz.

1.7. Propriedades do Estado Sólido

Propriedades químicas, físicas, farmacêuticas e biofarmacêuticas precisam ser analisadas para garantir a seleção da matéria-prima mais apropriada para formular. Por isso a necessidade de caracterização e investigação das propriedades do estado sólido de qualquer IFA (AALTONEN et al., 2009). O conhecimento das possíveis interações físicas e químicas entre excipientes e fármacos (MURA; GRATTEI; FAUCCI, 2002) e a previsão dos desvios de qualidade provenientes do polimorfismo que a grande maioria dos fármacos pode apresentar (CUFFINI; PITALUGA; TOMBARI, 2009), possibilitam a completa caracterização e a seleção dos IFAs.

Análises espectroscópicas, de difração de raios-X e análise térmica (GIRON, 2002) assim como medida das taxas de dissolução intrínseca para avaliação das propriedades de dissolução sem interferência dos excipientes (TENHO et al., 2007) são técnicas que, associadas, vêm sendo utilizadas na solução de problemas encontrados pela indústria farmacêutica (GIRON, 2002; CUFFINI; PITALUGA; TOMBARI, 2009). As técnicas termoanalíticas possuem aplicação na área farmacêutica há mais de 40 anos (GIRON, 2002). A Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), a Análise Térmica Diferencial (DTA) e

a Termogravimetria (TG) são amplamente utilizadas nas ciências farmacêuticas, seja para caracterização de fármacos, determinação de pureza, investigação de formas polimórficas ou estudos de compatibilidade fármaco/ excipiente (ARAÚJO et al., 2003; MURA; GRATTERI; FAUCCI, 2002; CUFFINI; PITALUGA; TOMBARI, 2009). A difração de raios-X de pó (XRPD) e/ou monocristal é ferramenta indispensável e o único método analítico pelo qual informações qualitativas e quantitativas sobre a estrutura cristalina dos compostos no estado sólido podem ser obtidas. Cada substância cristalina possui padrão de difração de raios-X único (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 1992). A caracterização dos diferentes hábitos cristalinos dos polimorfos e os efeitos de superfície de cada IFA podem ser obtidos pela microscopia eletrônica de varredura (MEV) (CUFFINI; PITALUGA; TOMBARI, 2009). A espectroscopia de Raman (RS) e de Infravermelho (DRIFT) são ferramentas disponíveis para a elucidação da estrutura química dos compostos, sendo ambas complementares porque existem diferenças nos grupos funcionais que são ativos em uma ou em outra (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 1992). Ambas são técnicas que permitem identificar possíveis interações químicas entre fármacos e excipientes (MORA; CIRRI; MURA, 2006; STULZER et al., 2008). A RS é muito utilizada também na quantificação de um polimorfo em uma mistura de fases (VIPAGUNTA; BRITTAIN; GRANT, 2001) e pode ser aplicada para a quantificação de conteúdo amorfo se os espectros de fases cristalina e amorfa forem diferentes o suficiente para isso (TAYLOR; ZOGRAFI, 1998). A taxa de dissolução intrínseca é mais bem correlacionada com a dissolução de fármacos que a solubilidade e tem sido usada para a caracterização de IFAs (YU et al., 2004). Essa técnica permite avaliar diferenças no comportamento dos polimorfos de um fármaco, diferentes lotes de um mesmo fármaco e iguais ou diferentes polimorfos de diferentes fabricantes. É possível estudar diferenças na cristalização e efeitos do micronizado que modificam e impactam as características de ordem e desordem nas partículas. Portanto, a técnica de dissolução intrínseca permite discriminar e avaliar algumas propriedades físico-químicas do estado sólido, polimorfismo, e seu impacto na velocidade de dissolução sem interferência de outras características como tamanho e hábito das partículas e sua área superficial (YU et al., 2004).

1.8. Micronização

A micronização consiste na redução das partículas de um pó para aproximadamente 10 μm , ou até menos, como no caso das formas farmacêuticas de liberação pulmonar, por exemplo (OMELCZUK; WANG; POPE, 1997; RASENACK; STECKEL; MÜLLER, 2004). É um processo muito comum para fármacos que apresentam problemas de dissolução e, consequentemente, biodisponibilidade reduzida, como os fármacos pertencentes às Classes II e IV do BCS (RASENACK; STECKEL; MÜLLER, 2004; HAN et al., 2011).

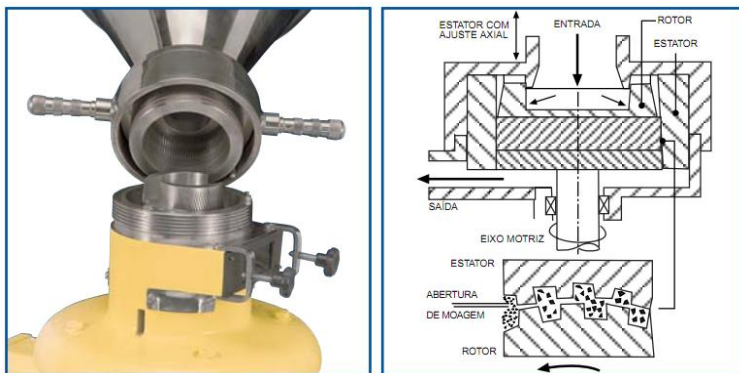
A redução do tamanho das partículas proporciona aumento da área superficial e da relação área superficial/ volume e permite maior interação com solventes no processo de produção e com os líquidos fisiológicos quando da administração da forma farmacêutica (ALMEIDA, 2009; PANKAJ et al., 2011).

O tamanho das partículas é reduzido em uma ampla variedade de equipamentos disponíveis para a realização desta técnica (VOGT; KUNATH; DRESSMAN, 2008). No moinho coloidal (Figura 3) a obtenção de partículas em escala micrométrica ocorre devido ao atrito entre as partículas e as paredes do equipamento, e, entre as próprias partículas.



Figura 3. Fotografia de um Moinho Coloidal (Fonte: www.moinhosmeteor.com.br/pdf/coloidal_02.pdf).

Na Figura 4, pode-se observar o esquema de um rotor-estator de moinho coloidal. O produto é submetido a altas forças de cisalhamento de corte e de friccionamento entre superfícies metálicas dentadas, sendo que o estator é fixo e o rotor gira em alta rotação. A abertura de moagem (observada na figura) é regulada por um ajuste axial do estator.



VISTA DO ESTATOR-ROTOR INSTALADO

Figura 4. Esquema de um estator-rotor de Moinho Coloidal (Fonte: www.moinhosmeteor.com.br/pdf/coloidal_02.pdf).

1.9. *Spray-drying* e Liofilização

A secagem por aspersão ou *spray-drying* é o método de evaporação de solvente mais utilizado na obtenção das dispersões sólidas (VASCONCELOS; SARMENTO; COSTA, 2007). É uma técnica muito utilizada na área farmacêutica para a eliminação de água ou outro solvente através da aspersão de líquidos, soluções ou suspensões, em uma corrente de ar aquecido para a obtenção de pós (CORRIGAN, 1995; AULTON, 2005). As partículas obtidas por esta técnica apresentam-se como esferas ocas e de aparência uniforme (AULTON, 2005) e o produto pode ser obtido a partir de um único composto como um excipiente ou o fármaco, mas pode ser também multicomponente, contendo fármaco e excipiente (CORRIGAN, 1995). Por esta técnica os pós são obtidos com excelente qualidade com relação aos parâmetros distribuição granulométrica, homogeneidade e forma das partículas (da COSTA, 2011). Na figura 5, pode-se observar um *spray dryer* e seus componentes. A solução ou suspensão entra em contato

com o atomizador onde as partículas são quebradas originando pequenas gotículas. As gotículas encontram um fluxo de ar quente e, assim, o líquido é rapidamente evaporado enquanto as partículas estão suspensas no mesmo. O pó seco é separado da umidade ou da porção líquida pelo movimento centrífugo – causado pelo aumento na velocidade do ar quando as partículas e o ar entram nesse movimento. As partículas densas são “arremessadas” em direção às paredes enquanto o ar úmido, mais leve, é direcionado para fora através de canais de escape. O pó fica depositado em um recipiente acoplado à saída do equipamento e então pode ser retirado do equipamento (AULTON, 2005).



Figura 5. Fotografia de um *spray dryer* (Fonte: www.labmaqdobrasil.com.br). Componentes do equipamento: 1 – Chave geral; 2 – Controle de aquecimento; 3 – Controle de bombeamento de líquido; 4 – Câmara de secagem; 5 – Separador de pó seco; 6 – Indicador de temperatura de saída do produto; 7 – frasco coletor do pó seco.

A liofilização é uma operação amplamente utilizada na produção de medicamentos, assegura a estabilidade por longos períodos de tempo e preserva as propriedades originais dos produtos farmacêuticos (ABDELWAHED; DEGOBERT; FESSI, 2006 a). Algumas vezes possibilita a obtenção de produtos secos de melhor qualidade em comparação aos demais métodos de secagem embora seja um método caro de desidratação porque é lento e necessita de vácuo (LIAPIS; BRUTTINI, 2008). O produto obtido é muito higroscópico devido à porosidade, e, a menos que o produto seja seco no próprio recipiente de acondicionamento, condições especiais são necessárias para essa etapa (AULTON, 2005). O fármaco e os excipientes são solubilizados/ dispersos em algum solvente, em geral água, a solução ou suspensão é filtrada através de uma membrana de 0,2 μm e levada ao liofilizador (Figura 6), onde é congelada. Em sequência, é aquecida a baixa pressão para que o solvente seja eliminado da formulação. Depois de eliminado o solvente, o produto é armazenado em *vials* e selado sob vácuo ou um gás inerte, em geral, nitrogênio. O pó obtido é altamente poroso e apresenta baixo conteúdo de umidade, o que permite o armazenamento por longos períodos (TSINONTIDES et al., 2004; ABDELWAHED et al., 2006 b). A degradação química, principalmente por hidrólise, é minimizada porque a secagem é realizada a baixas temperaturas e além disso, a forma porosa do produto permite que ele apresente dissolução facilitada (AULTON, 2005), característica essa desejável para o efavirenz assim como para a grande maioria dos fármacos.



Figura 6. Fotografia de um liofilizador (Fonte: www.terrioni.com.br).